「植物保護新科技研討會」專刊
臺灣省農業試驗所特刊第57號　pp. 11-22 (1996)

害蟲鑑定新技術:生化、電腦及聲波分析技術之應用

楊　曼　妙
國立自然科學博物館蒐藏研究組

摘要：近年來由於生物技術及電腦等科技的快速發展，加以系統分類學理論的演進，昆蟲分類學及系統發生學的研究，普遍的應用新技術，以多方面的特徵配合傳統的形態方法來探討問題，間接的也提供害蟲鑑定技術的新展望。本文從生化(包括同功異構酶電泳分離技術、免疫方法、染色體分析、核酸變異分析及表皮碳氫化合物分析等)、電腦及聲波分析三方面，介紹這些技術在昆蟲鑑定上之應用，其適用範圍、優缺點及在害蟲鑑定的應用實例。

關鍵詞：害蟲鑑定、生化、電腦、聲波分析。

前　言

所謂鑑定(identification)是指將一生物個體歸屬到已建立的分類系統中之某一類群。鑑定的過程通常是用演繹法(deductive method)，根據檢索表(key)中的少數關鍵特徵來判別[28]。也因此很明顯的，鑑定技術的基礎必須建立在良好的分類系統之上。除此之外，害蟲的鑑定更需要準確、快速、簡便以及低成本。因爲害蟲的鑑定往往牽涉到經濟利益的問題，例如面對一批受昆蟲感染的進口貨物是否讓其通關，抑或一種田間受害作物是否應立即做防治處理，均有賴於準確的害蟲鑑定；而快速的決定往往可以減低產品在等待決策過程中所造成的損失；加以決策者如海關人員等往往需要同時面對多類害蟲，不可能如分類專家般精通某一類群生物之分類，因此簡便易操作的鑑定方法是必要的；此外，害蟲鑑定的需求往往是經常性的，而且通常是普遍的需求，因此發展低成本的鑑定方法是有其必要性的。

由於現有的一般昆蟲分類体系以成蟲或蟲體發育的某一階段之形態爲主，因此直接以肉眼或光學顯微鏡做傳統的形態比對是最常使用的鑑定方法。這種方式可以解決一般問題，但在某些狀況則需要尋求其他技術的支援，通常有下列兩種情形：一是形態相近不易區分的近緣類群，需要利用其他的生物特性，如生態、生理及生化等方面的特徵；二是形態雖可區分，但手續繁複且仰賴專家著手，爲要求效率及客觀性，發展如電腦自動鑑定等系統。

本文從生化(包括同功異構酶電泳分離技術、免疫方法、染色體分析、核酸變異分析及表皮碳氫化合物分析等)、電腦及聲波分析三方面，介紹這些技術在昆蟲鑑定上之應用。由於害蟲鑑定過程中往往涉及偵測害蟲存在與否，而針對某類害蟲所發展的偵測系統可以輔助鑑定，二者有相輔之效，在本文裡並未做明顯的區分。此外，因爲涵蓋範圍極廣而準備匆促，又限於時間難以週全，僅扼要針對每一項目探討其適用範圍、優缺點及列舉數個害蟲鑑定的應用實例。

生化技術之應用

昆蟲表皮碳氫化合物 (Cuticular hydrocarbon)：

利用氣相色層分析法 (gas chromatography，GC) 分析昆蟲表皮碳氫化合物的分類方法，近年來有許多應用的例子，尤其在近緣種及同胞種 (sibling species)之區辨[1]。

昆蟲爲外骨骼動物，其表皮碳氫化合物主要功能爲調節與保護，即防止水份散失，抵禦外來化學物質或微生物的侵入，在某些種類還進一步扮演訊息傳遞的功能，如發散費洛蒙(pheromone)等。這些特性已證實與遺傳有關，爲基因型的表現[23]，同時具有一定的穩定性，可做爲分類的依據[18]。此法的優點是不破壞標本外形，死活標本均可用，有助於博物館蒐藏品之利用[30]。然其缺點是需要基本設備及訓練，不易在野外進行，且其變異度依不同種類或同種之不同齡期(甚至日齡)，在GC色譜圖的質與量上或有差異[11]，應用時需很謹慎瞭解其變異。

著名的瘧疾病媒蚊蟲*Anopheles gambiae* complex 中之*A. gambiae*及*A. arabiensis*形態相仿且經常同域存在(sympatric)，二者即在碳氫化合物色譜圖之C25-C29 有別[9]。熱帶家蚊之美國Riverside品系與印度Ghazi Abad品系之碳氫化合物色譜圖在雌雄上均有所別[11]，顯示此技術亦可運用於偵測不同之地理品系。而形態難分的德國蟑螂(*Blattella germanica*)與亞洲蟑螂(*Blattella asahinai*)雖在表皮碳氫化合物分析上只呈現定量(quantitative)差異，無定性(qualitative)區別，但可清楚區分此二種，甚至其雜交種。此二近緣種與同屬親緣較遠之*B. vaga*則有清楚的定性差異[8]。

昆蟲表皮碳氫化合物的進一步說明與實例可參考陳[1]在病媒昆蟲分類之應用的綜合論述。

染色體分析 (Chromosomal analysis)

使用染色體特徵分類的方法由來已久，至今仍被使用。其優點是基本設備簡單，是一種只要使用許多研究室原已具備的顯微鏡，即可探知染色體分子的方法[34]。然而其缺點是材料限於蟲體的某一階段，並且仰賴好的操作技術。使用的染色體特徵，除了數目與形態以外，近年來分子生物技術的發展也提供了染色體研究的新特徵，進一步做染色體上band的比較，如C-banding、G-banding 及FISH (fluorescence *in situ* hybridization)等詳細分析，使特定核酸序列在染色體的位置可以辨視出。

應用染色體探討分類及演化的例子，於雙翅目最爲普遍，在果蠅的研究上更有悠久的歷史，著名的夏威夷果蠅(Hawaiian *Drosophila*，參見Carson and Yoon [10])即爲一例，在此則以澳洲鬥牛犬蟻(Australian bulldog ant, *Myrmecia*)之研究爲例[24]，說明染色體分析的各種方法在此類螞蟻分類及演化上探討之應用。*Myrmecia pilosula*事實上爲一複合種(species complex)，在1950年代一直被螞蟻分類學家認爲是同一種，只是形態稍有變異。Imai 等學者[24]近年來在其染色體演化方面的研究顯示，其種間染色體核型有極大的變異度存在(2n=2-32)，其中至少包含五個染色體數目完全不同的種，即*M. croslandi*(2n=2-4)，*M. imaii*(2n=6-8)，*M. banksi*(the greenhead bulldog ant，2n= 9-10)，*M. haskinsorum*(2n= 12-24) 及*M. pilosula*(the blackhead bulldog ant, 2n=18-32)。由C-banding的分析證實，在田間發現*M. banksi*與*M. pilosula*的色彩中間型個體，是此二種的雜交後代。Hirai 等[21] 更進一步使用FISH 探測*Myrmecia*五個種的DNA在染色體上的位置，發現在

C-bands上，並探討其染色體高變異度情形的演化，結果支持分裂(fission)的假說，較不支持結合(fusion)的假說。

同功異構酶或異位酶電泳 (Isozyme or allozyme electrophoresis)

電泳技術可謂是分子層次的研究中，最具低成本而高效益的方法，此爲其自1950年代早已發展而至今仍被廣泛使用在研究分類、遺傳、演化與生態等方面的原因之一(29)。在族群遺傳學上更於1960至1980年代期間盛極一時，蔚爲風尚，幾乎是將能發現的生物都拿來研磨跑電泳，因此有"發現與研磨學派" ("find ‘em and grind’em" school) 之稱呼(25)。

電泳(electrophoresis)是利用電場的影響使蛋白質分離的方法。分析的蛋白質之各成份因爲分子的大小及荷電量的不同，受到選用的緩衝液種類、酸鹼值、膠片的孔隙大小及電場的强弱等影響，使其在電泳膠片上移動距離的遠近形成差異。利用不同的染色法即可使分開的泳動帶(band)呈色，藉以看出此類酵素的基因變異。通常檢視的蛋白質爲同功異構酶(isozyme)或異位酶(allozyme)。所謂同功異構酶乃指一群作用於相同基質(substrate)而分子結構不同之酵素。異位酶則是在同一基因座(locus)上的不同對偶基因(allele)所形成的酵素系統。此法的缺點是分析時標本必須是新鮮的(即活的或剛死的)或是保存於超低溫冷凍的新鮮標本。

應用電泳分類以輔助形態特徵之不足的例子不勝枚舉，尤其在形態不易分辨的複合種等情形，這類例子在許多古老而形態演化保守的分類群尤易發現(38)，相關資料可參見Richardson *et al.* (31)及 Murphy *et al.* (29)。

免疫分析(Immunoassay)

由於生物體內的抗體(antibody)會與外來的蛋白質(抗原，antigen)結合(binding)，產生免疫反應，其反應結果依抗體對抗原的親似性(affinity)與專一性(specificity)而不同，可以使用多種直接或間接的方法測定。在"蛋白質的親緣越近，其免疫反應越强"的假設前題之下，兩種不同生物間親緣的遠近，即可依其反應的强弱辨認。然而值得注意的是，反應結果的强弱也可能受到方法精確度的影響(27)。

目前免疫技術在植物病原菌的偵測鑑定與診斷似乎發展得比昆蟲方面爲快，相關原理與資訊可以參考本刊陳等(2)及張(3) 的描述，此處不再重複。有趣的是利用免疫技術鑑定昆蟲的例子，在昆蟲生態學研究中已有四十年的歷史(7)，主要用於鑑定捕食性生物(如蜘蛛)消化器官內的昆蟲種類，藉以瞭解捕食者與被捕食者間的關係。其方法從早期較不敏感但便宜的tube precipitin test (15)，到醫學臨床的一些技術，如passive hemagglutination inhibition、 radioimmunoassay與 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 等已多所應用，尤其是最後一項。Stuart & Greenstone(37) 更提出immunodot assay的方法，比ELISA更爲敏感、快速及便宜，而最重要的優點是它不像ELISA需仰賴spectrophotometric reader的判讀，並且正負反應很明確。其實驗的材料是刺益椿(spined soldier bug, *Podisus maculiventris,* Pentatomidae)與狼蛛(jumping spider，*Phidippus audax*，Salticidae)胃中的玉米穗蟲 (*Heliothis zea*，Noctuidae)。

此法的缺點是預備試驗繁複而昂貴，且如前項技術般，材料必須是新鮮的或是保存於超低溫冷凍的標本。然而，應用此類相關方法在害蟲鑑定上應有很好的發展，其專一特性提供很大的發展空間，不僅可以進行活蟲之偵測，甚或昆蟲遺體或殘骸亦可測知。例如Schatzki 等人(33) 以肌球蛋白(myosin) ELISA方法偵測小麥穀物中是否有穀象(*Sitophilus granarius*) 存在。且若發展良好，

可以研發田間可用的測試套具(kit)，達到準確、快速又簡便的效果。

以核酸爲基礎的分子生物技術 (DNA-based method)

以核酸(DNA)爲基礎的分子生物技術，在近年來普遍被應用到各方面的研究。受到歡迎的原因無異是它直接探索生物遺傳藍圖的最簡單化學形式。它的另外優點是核酸具耐久性與穩定性，不因齡期或環境而不同，使得材料除了新鮮的或冷凍的標本外，還可以是保存於酒精中或已經乾燥的，甚至可從化石中提析。因此提供了符合準確、便宜與易操作等條件的發展潛力。此方法以往最主要的缺點是需要用放射性同位素標記，近年來已發展出非放射性標記的方法，不過仍限於少數的酵素。

目前的各種技術主要仰賴核酸探針(DNA probe) 或核酸聚合酵素聯鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)兩大類，而進行方法可分直接(direct)與逢機(random)兩種，例如以PCR爲基礎採用逢機方法者最常用的是任意引子核酸複製聯鎖反應增幅法(random amplified polymorphic DNA, RAPD)。此法於1990年始發展但廣受應用[4]，主要是其僅用任意的一條引子(primer)進行PCR反應，不需事先取得該基因組的資料，且僅需要少量的 DNA，操作又簡單。Wilkerson *et al.*[41]的研究以此法鑑定瘧疾病媒蚊蟲*Anophelis gambiae s.s.*與 *A. arabiensis*，發現有七個引子具有判別性的特徵。*Anophelis gambiae* complex 的成員含有六個形態極爲相近的姊妹種，其中多種(如 *A. gambiae*及 *A. arabiensis*)惡名昭彰，爲非洲地區傳染瘧疾的主要病媒，許多研究單位投資大量人力與物力，嘗試以各種方法區辨傳病與不傳病的種類，以期達到有效的防治。利物浦熱帶醫學院(Liverpool School of Tropical Medicine)乃其中之一，Crampton及其同儕[19,20]致力於篩選每種瘧蚊內具有專一性的一段DNA，利用此探針鑑定病媒害蟲，提供是或否的絕對性答案。目前他們已發展出可以在野外測定*Anopheles gambiae* complex的簡單、敏感而準確的DNA探針，並且即將推出昆蟲史上第一套商品化的昆蟲鑑定套具(insect identification kit)。此法將提供理想而簡便的偵測，只是每一受測蚊蟲可能得經過一系列的探針測試，方可取得最後的答案。

Hill and Crampton[19] 就以核酸爲基礎的技術在病媒昆蟲鑑定的綜論一文中，針對核酸探針或核酸聚合酵素聯鎖反應兩方法和前述染色體及電泳方法做一成本評估，顯示前兩種較新發展技術的成本並不比後二者爲高(表一)。不過值得注意的是，其估算並不包含先期試驗，而此部份通常在核酸技術上花費極大，因此在詮釋其比較結果時需極謹慎。

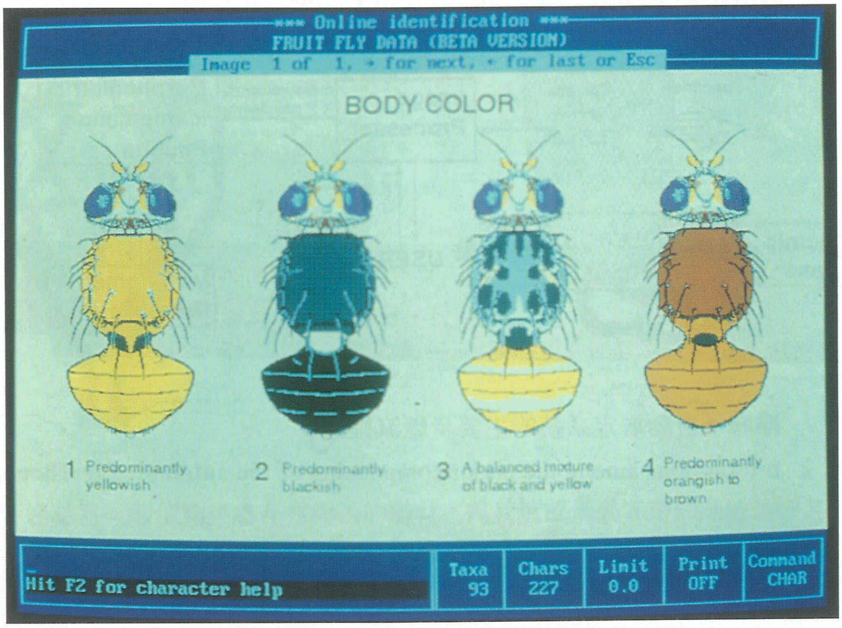
表一、鑑定瘧疾病媒蚊蟲 *Anopheles gambiae* complex 的四種方法之比較

Table 1. Comparison of four techniques for the identification of *Anopheles gambiae* complex mosquitoes[19]

Parameter	Chromosome	Isozymes	PCR	DNA probes
Costs per specimen (US$)	0.10	1.00-1.58	1.45	0.06-0.12
Capital equipment (US$)	9,000	12,300	12,800	basic lab equipment
No. specimen/person/day	30	40	40	200
Preservative	Carnoy's	Liquid N_2	Isopropanol	Any
Specimen requirement	Half gravid female or 4th instar larvae	Female or male	Any stage	Any stage
Accuracy (%)	100	95	100?	100?
Period of training required	3 months	6 weeks	1 week	1 week

電腦技術之應用

資訊電腦化是現代的普遍趨勢，昆蟲分類的研究亦不例外。尤其是在處理龐大的昆蟲種類資料時，電腦的快速處理能力及對所收集資料空間的節省上，無疑的提供了良好的解決的途徑。由於電腦設備的普及化，更使得所建立的資訊可以廣泛流傳與利用。許多國家的研究機構紛紛成立專案建立生物資料庫。例如由荷蘭政府、阿姆斯特丹大學及聯合國共同支助的非營利組織－分類鑑定專家中心(Expertise Center for Taxonomic Identification, ETI) 即針對分類專家的日益減少，以及這方面資訊的可及性的降低，於1991年成立了此一中心，其目標為運用現代電腦科技，集中、保存並傳佈分類知識，以達到快速與有效的解答分類、生物地理與生態方面的問題[32]。ETI首先進行的類群有鳥類與原生動物等，將以CD-Rom 及網路線上作業方式提供使用。另外以昆蟲資料庫為主的則有由美國農業部系統分類研究室提出的陸生節肢生物系統分類資料庫(Biosystematic Information on Terrestrial Arthropods, BIOTA)，目標在建立分類命名資料庫，收錄世界上所有已知昆蟲之目錄，也將以CD-Rom 及網路線上作業方式提供使用。BIOTA初期建立的資料將以北美昆蟲為主，目前Allen Norrbom完成了長達571頁的北美果實蠅 (Tephritidae)手冊，以此為依據，美國農業部系統分類研究室的Christian Thompson 、Lynn Carroll 與Norrbom 加上英國及以色列的專家共同合作，在長達五年的工作之後，如今即將推出電腦化的果實蠅專家系統測試版[14] Thompson，個人通訊)，其中繪圖及描述了 190種具經濟重要性的果實蠅，將有助於海關檢疫人員快速的鑑別害蟲，儘速決定是否讓檢疫商品通關，以減低經濟損失[6](圖一)。在俄國則有已發展二十年歷史而於最近更新版本的BIKEY電腦輔助鑑定系統[26]，以多選擇檢索的方式取代傳統的單項檢索，並有圖表及文字說明輔助使用。此程式具有快速的鑑定效率，可應用於植物保護與檢疫工作上。

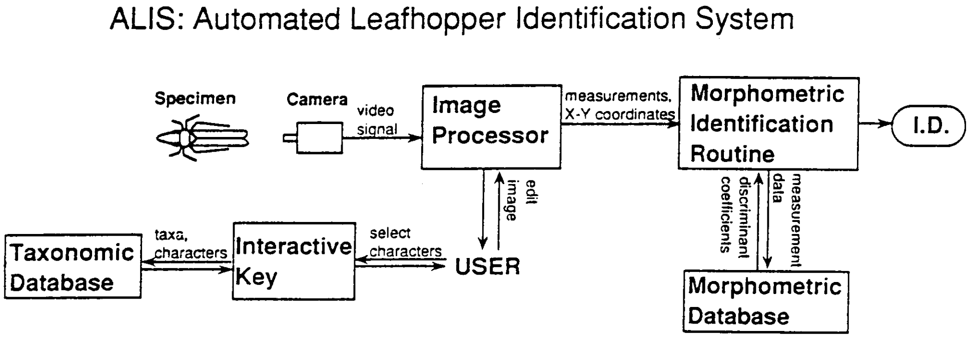


圖一、電腦化的果實蠅專家系統顯示的選項螢幕之一。

Fig. 1. One of the screens displayed choices by the Fruit Fly Identification System. (Courtesy of C. Thompson)

在國內則有蔡與齊(5)建立的甘蔗害蟲專家系統SCanPest。所謂專家系統(expert system)是指以電腦模擬人腦智慧的思考方式(或稱人工智慧)，針對特定的專門領域所建立的系統。隨著人工智慧的熱烈發展及電腦科技的日新月異，專家系統也自1980年代起廣泛的被應用到病蟲害防治方面(12,22,36)。SCanPest以選擇性的目錄諮詢使用者，容許肯定(是或否)或不確定的答案，除提供害蟲資料檢索及害蟲種類鑑定的服務外，還有建立新資料及修改已有之資料庫內容的能力，頗具彈性及發展的空間，是國內此方面發展的很好起步。

使用電腦進行昆蟲鑑定的另一類例子爲Dietrich 及Pooley(13) 針對 *Draeculacephala* 屬浮塵子發展的自動鑑定系統(automated leafhopper identification system, ALIS)。只要將欲鑑定的標本置於解剖顯微鏡下，其所連接的影像分析儀與設定好的電腦程式將會呈列標本特徵與圖供使用者選擇，在重複的交流篩選下，直至剩一個種或一個種群，若爲後者則需進入形態測量系統，調整標本與抓取影像後將進行自動鑑定程序(圖二)。*Draeculacephala* 屬中多數種可以使用定性的非連續性特徵來分別，Dietrich 等建立了26種18個外形特徵的矩陣區辨之。但其中有兩個種群(species group)無法直接由外形來判斷，需要以雄性生殖器及腹部內骨分辨。Dietrich 等以形態測量的方式取代解剖比對的繁複手續，用定量特徵分析之，可達89-98%的準確度，其中最低的限於 *D. antica* group 的兩種極不易分的雌蟲。此一系統的缺點是設備成本較高，即使假設電腦目前極爲普遍，大部份的實驗室具備足夠處理這些資訊的電腦硬體，仍需要另外投資影像分析設備。而此一系統將來的展望是完全自動化，即當使用者將一欲鑑定的標本擺好角度置於解剖顯微鏡下，影像進入電腦後，不需使用者在過程中回答檢索的問題，能自動進行定性或定量分析，最後給予正確的答案。



圖二、浮塵子自動鑑定系統的主要步驟流程圖。

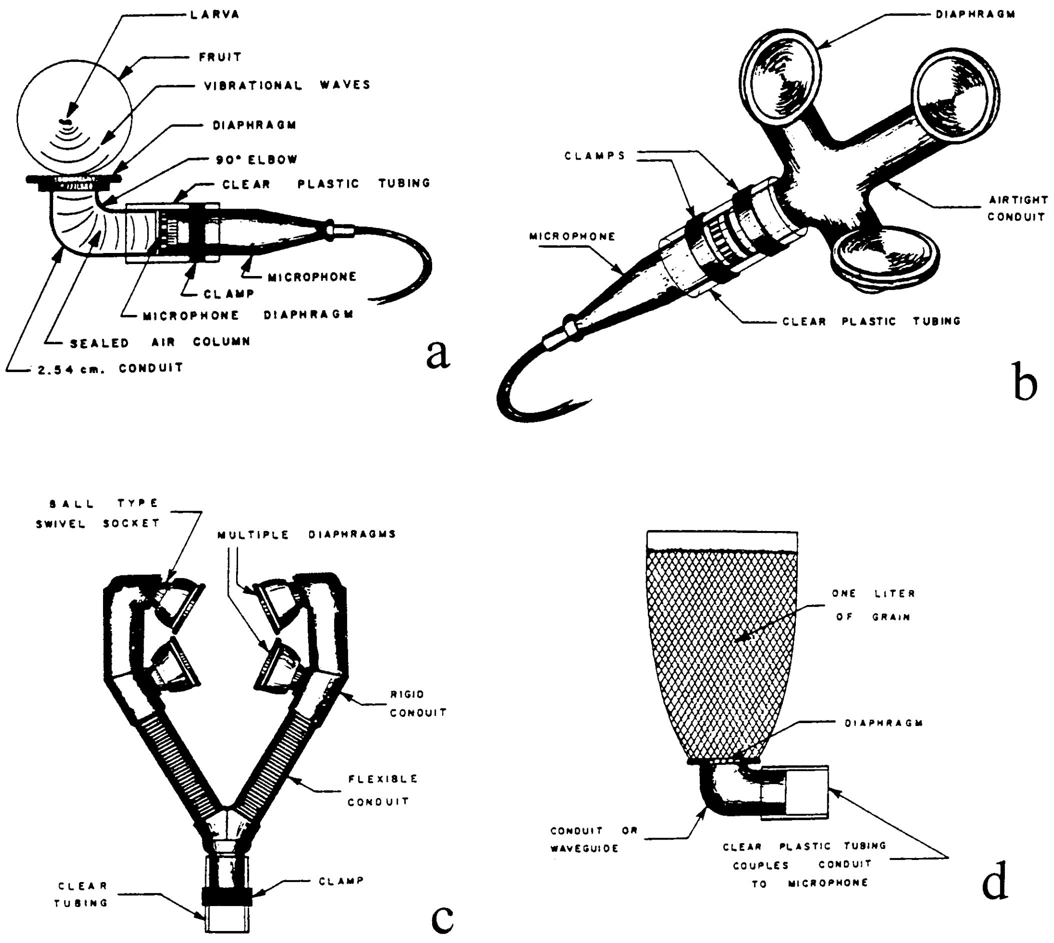
Fig. 2. Interactions among the major components of the automated leafhopper identification system.(13)

聲波分析技術之應用

聲音在許多類的昆蟲是傳遞訊息的重要方式，利用昆蟲發出的聲音來分辨種類、輔助形態分類的例子，在直翅目及同翅目尤多。通常這些聲音對昆蟲本身具有特殊的意義，如求偶、警戒、

辨認同巢伙伴等。但昆蟲也可能發出一些沒有特殊意義的聲音，如咀嚼或行走所發出的噪音。這些聲音或許不容易應用於種類鑑定，但可能幫助我們達到偵測其存在的依據。

Webb等人(39,40)在佛州的美國農部研究站即利用果實蠅幼蟲等取食所發出的聲音來判別是否有害蟲在水果等農產品中，以作爲檢疫之判斷。他們依不同農產品形狀發展出可將其握住或承裝的偵測器材，稱作聲音連結器(acoustical coupler，圖三)，只要將欲偵測的水果或穀物放置其上，若有害蟲取食，經過放大器即可將噪音傳遞至聲波分析儀及耳機。此法檢驗農產品中的害蟲，不僅免於剖開水果所造成的產品損失，且其敏感度高，甚至可以偵測出果實蠅的初齡幼蟲，這種微小而透明的蟲體通常不易於解剖顯微鏡下找出。



圖三、四種聲音連結器，即偵測害蟲存在與否的器材，爲握著或承裝不同形狀的農產品而設計。(a)用於圓形水果(如葡萄柚)的單臂裝置；(b)用於圓形水果如柳橙的三臂裝置；(c)用於不規則形水果(如木瓜及芒果等)的設計；(d)用於承載測試的儲存穀物之設計。

Fig. 3. Four acoustic couplers designed for different shaped agricultural products. (a) a single-arm design for spherical fruit such as grapefruit; (b) a three-arm design for round fruit such as citrus; (c) for irregular shaped fruit such as papaya and mango; (d) for stored grain. (provided by J. C. Webb, USDA-ARS Insect Attractants, Behavior, and Basic Biology Research Laboratory, Gainesville, FL)

Webb的同一研究室近年改善其偵測穀物害蟲的方法，發展出另一套以壓電感應器(piezoelectric sensor)替代麥克風，更敏感、更便宜的系統，並且連接電腦，可以自動偵測出包括穀物間及通常不易偵測到的穀物內害蟲，其所在位置及密度[35]。此外，若將感應器裝置在穀物的儲藏處，可以作長期的自動偵測，而不需要自倉儲中取出穀物查視情形，對於配合市場需求的變動及瞭解穀物品質狀態，決定何者需儘早銷售或處理，有很大的幫助[16,17]。

至於蛀木昆蟲發出的聲音也被應用於偵測其存在與否以及種類之判定，並且在多年前已商品化。美國科羅拉多州一家公司出品Insecta-Scope偵測器，猶如醫生用的聽筒般，將之貼到木屋牆壁等要偵測的木頭上，可由連接的耳機直接來監聽。

結語及未來展望

以上各種方法的優缺點比較是相對的，不是絕對的。最重要的是每一方法有其特性，必須依種類、需要與目的來選擇適用的。而文中多處將分類、鑑定與偵測相提並論，並未清楚的釐定界線，主要是因為這些方法在鑑定上的應用並非都已成熟，而分類提供鑑定的基礎，偵測亦免不了涉及鑑定。例如前面介紹的聲波分析方法主要是偵測害蟲是否存在，並非以鑑定為目標。但偵測前若對該種害蟲聲音的特性不瞭解，則無法確定測得的聲音是否來自欲偵測的害蟲。如此情況下，害蟲的偵測實際上涵蓋鑑定的程序。

害蟲鑑定技術仍有待長足的研究與發展，而其目前最大的限制來自於基本分類資料的不全。所幸現階段已有數個以建立完整分類資料庫為目標的計畫在進行當中，然而此類計畫仍以整理現有分類資料為主，實際上許多昆蟲的分類體系極待重新修訂，需要更多人的投入與努力。

醫學界早就想以免疫方法在五分鐘內測出是否感染愛滋病(見Newsweek, July 25, 1988, p.51)，我們希望將來在害蟲鑑定上能發展出更快速、簡便而準確的鑑定方法，雖然這種研發是需要很大的投資，但相對於一些嚴重而常發生的害蟲所造成的影響，還是值得發展的。在這個科技整合的時代，不僅是生化、電腦以及聲波分析等已發展技術，期望有更多好的新技術應用在昆蟲的鑑定。

謝　　辭

感謝美國農業部(USDA)蜜蜂研究室(Bee Research Laboratory)的洪章夫博士，在準備演講前提供許多資訊與幻燈片，文成之後又幫忙審稿，給予諸多寶貴的意見。此外，USDA 昆蟲誘引物、行為及基礎生物學研究室(Insect Attractants, Behavior, and Basic Biology Research Laboratory)的 J. C. Webb 及R. Mankin提供聲波檢測資訊與慷慨允諾使用圖片；USDA 昆蟲系統分類學研究室(Systematic Entomology Laboratory)的 Chris Thompson 亦提供電腦鑑定方面的圖片與資訊；臺大植病系研究生楊肖欽、商品檢驗局許明達、中興大學齊心教授亦提供部份資料，在此一併致謝。

參考文獻

1. 陳錦生 1991 表皮碳氫化合物在病媒昆蟲分類之應用。中華昆蟲特刊第六號 第四屆病媒防治技術研討會論文集 第34-47頁。

2. 陳隆鐘、余瑞卿、賴學珍、王志宏 1996 近代生物技術在病原真菌偵測及診斷之應用。農試所特刊 57:23-34。

3. 張清安 1996 植物病毒鑑定及診斷新技術。農試所特刊 57:35-45。

4. 鄭可大、陳志輝、周昌弘 1993 Random Amplified Polymorphic DNA 在生態學上的應用。生物科學 36(2): 1-8.

5. 蔡忻畋、齊心 1991 SCanPest: 甘蔗害蟲專家系統。植保會刊 33: 149-166。

6. Becker, H. 1994. Insect I.D.'s now at your fingertips. Agricultural Research (ARS, USDA), May, pp. 16- 18.

7. Boreham, P. F. L. and C. E. Ohiagu. 1978. The use of serology in evaluating invertebrate prey-predator relationships: a review. Bull. Entomol. Res. 68:171-194.

8. Carlson, D. A. and R. J. Brenner. 1988. Hydrocarbon-based discrimination of three North American *Blattella* cockroach species (Orthoptera: Blattellidae) using gas chromatography. Ann. Entomol. Soc. Amer. 81: 711-723.

9. Carlson, D. A. and M. W. Service. 1979. Differentiation between species of the *Anopheles gambiae* species complex (Diptera: Culicidae) by analysis of cuticular hydrocarbons. Ann. Trop. Med. Parasitol. 73: 589-592.

10. Carson, H. L. and J. S. Yoon. 1982. Genetics and evolutionof Hawaiian *Drosophila. in* Ashburner, M., H. L. Carson and J. N. Thompson, Jr. [eds.] The genetics and biology of *Drosophila,* 36: 298-344.

11. Chen, C. S., M. S. Mulla, R. B. March, and J. D. Chaney. 1990. Cuticular hydrocarbon patterns in *Culex quinquefasciatus* as influenced by age, sex, and geography. Bull. Soc. Vector Ecol., 15(2): 129-139.

12. Coulson, R. N. and Saunders, M. C. 1987. Computer-assisted decision-making as applied to Entomology. Ann. Rev. Entomol. 32: 415-437.

13. Dietrich, C. H. and C. D. Pooley. 1994. Automated identification of leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae: *Draeculacephala* Ball). Ann. Entomol. Soc. Am. 87(4): 412-423.

14. Entomological Society of America. 1994. Worldwide insect database on the horizon. ESA Newsletter, 17(5): 1

15. Greenstone, M. H. 1979. Passive hemagglutination inhibition: a powerful new tool for field studies of entomophagous predators. Misc. Pubs. Entomol. Soc. Amer. 11: 69-78.

16. Hagstrum, D. W. and D. Shuman. 1995. Automatic sample inspection and in-bin monitoring of stored-grain insects using acoustical sensors. pp. 207-209. *in* Krischik, V., G. Cuperus, and D. Galliart [ed.] Stored product management. Cooperative extension service, USDA and Oklahoma State University.

17. Hagstrum, D. W. , P. W. Flinn, and D. Shuman. 1995. Acoustical monitoring of stored-grain insects: an automated system. *in* Highley, E. *et al.* [ed.] Stored product protection. Proceedings of the 6th International Working Conference on Stored-product Protection. April 1994, Canberra, Australia.

18. Hamilton, R. J. and M. W. Service. 1983. Value of cuticular and internal hydrocarbons for the

identification of larvae of *Anopheles gambiae* Giles, *Anopheles arabiensis* Patton and *Anopheles melas* Theobald. Ann. Trop. Med. Parasitol. 77: 203-210.

19. Hill, S. M. and J. M. Crampton. 1994. DNA-based methods for the identification of insect vectors. Ann. Trop. Med. and Parasitol. 88(3): 227-250.
20. Hill, S. M., R. Urwin, and J. M. Crampton. 1992. A simplified, non-radioactive DNA probe protocol for the field identification of insect vector specimens. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 86: 213-215.
21. Hirai, H., M.-T. Yamamoto, K. Ogura, Y. Satta, M. Yamada, R. W. Taylor, and H. T. Imai. 1994. Multiplication of 28S rDNA and NOR activity in chromosome evolution among ants of the *Myrmecia pilosula* species complex. Chromosoma, 103: 171-178.
22. Holt, J., J. A. Cheng, and G. A.Norton. 1990. A systems analysis approach to brown planthopper control on rice in Zhejiang Province, China. III. An expert system for making recommendations. J. Appl. Ecol. 27: 113-122.
23. Howard, R. W. and G. J. Blomquist. 1982. Chemical ecology and biochemistry of insect hydrocarbons. Ann. Rev. Entomol. 27: 149-172.
24. Imai, H. T., R. W. Taylor, and R. H. Crozier. 1994. Experimental bases for the minimum interaction theory. I. Chromosome evolution in ants of the *Myrmecia pilosula* species complex (Hymenoptera: Formicidae: Myrmeciinae). Jpn. J. Genet. 69: 137-182.
25. Lewontin, R. C. 1991. Twenty-five years ago in genetics: Electrophoresis in the development of evolutionary genetics: Milestone or millstone? Genetics, 128: 657-662.
26. Lobanov, A. L. and M. B. Dianov. The BIKEY interactive computer identification system and its use in Entomology. Entomol. Rev., 74(6):41-53.
27. Maxson, L. R. and R. D. Maxson. 1990. Proteins II:Immunological techniques (Chapter 5). pp.127-155. in Hillis, D. M. and C. Moritz. [eds.] Molecular systematics. Sinauer. 588pp.
28. Mayr, E. 1982. The growth of biological thought. Diversity, evolution and ingeritance. p.147. Harvard Univ. Press. Mass.
29. Murphy, R. W., J. W. Sites, Jr., D. G. Buth, and C. H. Haufler. 1990. Proteins I: Isozyme electrophoresie (Chapter 4). pp. 45-126. in Hillis, D. M. and C. Moritz. [eds.] Molecular systematics. Sinauer. 588pp.
30. Phillips, A., R. Crosskey, A. Shelley, G. Broomfield, and D. H. Molyneux. 1986. Cuticular hydrocarbon analysis of museum Simuliidae. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 80: 844.
31. Richardson, B. J., P. R. Baverstock and M. Adams. 1986. Allozyme electrophoresis. A handbook for animal systematics and population studies. 410pp. Academic Press.
32. Schalk, P. H. 1992. Systematics goes multimedia: computerizing biological knowledge. ASC News letter, 20(3):117-119.
33. Schatzki, T. F., E. K. Wilson, G. B. Kitto, P. Behrens, and I. Heller. 1993. Determination of hidden *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) in wheat by myosin ELISA. J. Econ. Entomol. 86 (5): 1584-1589.

34. Sessions, S. K. 1990. Chromosomes: Molecular cytogenetics (Chapter 6). pp.156-203. *in* Hillis, D. M. and C. Moritz. [eds.] Molecular systematics. Sinauer. 588pp.

35. Shuman, D., J. A. Coffelt, and K. W. Vick. 1993. Quantitative acoustical detection of larvae feeding inside kernels of grain. J. Econ. Entomol. 86(3):933-938.

36. Stone, N. D., R. N. Coulson, R. E. Frisbie, and D. K. Loh. 1986. Expert systems in Entomology: three approaches to problem solving. Bull. Entomol. Soc. Amer. 32(3): 161-166.

37. Stuart, M. K. and M. H. Greenstone. 1990. Beyond ELISA: A rapid, sensitive, specific immunodot assay for identification of predator stomach contents. Ann. Entomol. Soc. Am. 83(6): 1101-1107.

38. Wake, D. B. and A. Larson. 1987. Multidimensional analysis of an evolving lineage. Science, 238: 42-48.

39. Webb, J. C. , C. A. Litzkow, and D. C. Slaughter. 1988a. A computerized acoustical larval detection system. Appl. engin. agric. 4(3):268-274.

40. Webb, J. C. , D. C. Slaughter and C. A. Litzkow. 1988b. Acoustical system to detect larvae in infested commodities. Florida Entomologist, 71(4): 492-504.

41. Wilkerson, R. C., T. J. Parsons, D. G. Albright, T. A. Klein, and M. J. Braun. 1993. Random ampli fied polymorphic DNA (RAPD) markers readily distinguish cryptic mosquito species (Diptera: Culicidae: *Anopheles*). Insect Molecular Bio. 1: 205-211.

New Techniques in Pest Identification: the Application of Biochemical, Computer, and Acoustic Analysis

Man-Miao Yang
Division of Collection and Research, National Museum of Natural Science

Abstract

The fast development in biotechnology and computer in recent decades provides many effective new approaches in systematics. It also casts the light of new techniques in pest indentification. In this paper, the application of biochemical, computer, and acoustic analyses is discussed. The biochemical approaches reviewed include cuticular hydrocarbons, chromosomal analysis, isozyme or allozyme electrophoresis, immunoassay, and DNA-based method.

Key words: pest identification, biochemical, computer, acoustic analysis.